

München, 1960.

**Über Serumeiweißfraktionierungen
mit Sulfosalicylsäure**

Heinz Müller



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555215_0069

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

Über Serumeiweißfraktionierungen mit Sulfosalicylsäure

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

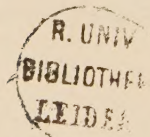
Heinz Müller
aus München

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. Dr. K. DIRR
Korreferent:	Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL
Dekan:	Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 6. 1960



HISTORISCHE VORBEMERKUNGEN

Zu Beginn des vorigen Jahrhunderts erkannte G.J. MULDER (1) die Eiweisse als Stoffe von erstrangiger Bedeutung und nannte sie aus diesem Grunde "Proteine" und brachte mit dieser Bezeichnung, die sich vom griechischen $\pi\rho\acute{o}\tau\epsilon\omicron\varsigma$ bzw. $\tau\acute{o}\ \pi\rho\acute{o}\tau\epsilon\acute{\iota}\omicron\nu$ ableitet, die Vorrangstellung der Eiweisskörper in der Biologie in prägnanter Formulierung zum Ausdruck. In der Tat sind die wichtigsten Lebensprozesse direkt oder indirekt an das Vorhandensein von Proteinen gebunden. So gehören u. a. zu ihnen die für die Struktur des Protoplasmas entscheidenden Substanzen, die in Verbindung mit den Nucleinsäuren für die Vererbung verantwortlichen Nucleoproteine der Zellkerne, die die Atmung und somit das Leben ermöglichenden Sauerstoffüberträger und die für die Erhaltung und Verteidigung des Lebens so überaus wichtigen Träger der Immunität. Daraus erklärt sich, dass die Eiweisse seit dem Beginn des letzten Jahrhunderts, besonders aber in den letzten 50 Jahren Ziel und Gegenstand weitester und breitester Forschungsarbeit der Physiologen, Serologen, Biochemiker und Biophysiker und nicht zuletzt der Kliniker auf der ganzen Welt geworden sind.

Um die Mitte des vorigen Jahrhunderts waren im Ganzblut drei verschiedene Eiweisse bekannt, 1. das Fibrin, 2. das zelluläre Eiweiss, das auf den Proteinanteil der roten Blutkörperchen bezogen wurde und 3. das Serumeiweiss, das als einheitlicher Körper betrachtet und Albumin genannt wurde. Die Fraktionierung dieses Serumeiweisses begann um das Jahr 1840 als SCHERER (2) in Nachprüfung einer Entdeckung des französischen Forschers DENIS im Liebig'schen Laboratorium nachweis, dass das Serumprotein keinen einheitlichen Eiweisskörper, sondern ein Eiweissgemisch darstellt, das neben dem Albumin einen in Wasser unlöslichen weiteren Bestandteil enthält. Dieser wurde schliesslich "Serumglobulin" genannt, nachdem man ihn zuerst als Serumcasein, Globulin und Paraglobulin bezeichnet hatte. HAMMARSTEN (3) bestimmte 1878 als erster den prozentualen Anteil der beiden Serumeiweissfraktionen. Die Entdeckung von SCHERER und DENIS war der Auftakt zu intensiver Forschungsarbeit und im Laufe des Jahres wurde eine sehr grosse Zahl von Fraktionierungsmethoden ausgearbeitet.

ÜBERSICHT ÜBER DIE WICHTIGSTEN VERFAHREN DER SERUMEIWEISSFRAKTIONIERUNG

Als erstes wurde eine Reihe von Methoden der fraktionierten Aussalzung angegeben, so mit Ammoniumsulfat nach KAUDER (4) (1886), mit Natriumsulfat nach HOWE (5), GUTMAN und Mitarbeitern (6) und mit Kaliumphosphatpuffer nach BUTLER und MONTGOMERY (7), welche letztere von LEUTHARDT und WUHRMANN (8), von ROCHE und DERRIEN (9) verfeinert wurde. Überragende Bedeutung kommt den Methoden der Plasmafraktionierung bei niedriger Temperatur und niedriger Ionenstärke unter Anwendung von organischen Lösungsmitteln nach COHN (10) zu, vor allem auch in praktischer Hinsicht. Ihm und seinen Mitarbeitern ist es gelungen, weitgehend gereinigte Plasmaproteine zu therapeutischer Anwendung darzustellen, z.B. immunkörperreiches γ -Globulin für die Bekämpfung von Infektionskrankheiten oder ein antihämophiles Globulin zur Behandlung von manchen Fällen von Hämophilie. Weiterhin sind vor allem von praktischer Bedeutung die Fraktionierungsmethode nach KEKWICK und MACKAY (11), die Fraktionierung mittels Alkoholfällung nach NITSCHMANN, KISTLER und LERGIER (12) sowie die Fraktionierung mit Rivanol nach HOREJSI und SMETANA (13).

Um das Bild der fast verwirrenden Vielzahl der angegebenen Methoden wenigstens einigermaßen abzurunden, bedarf es noch der Erwähnung der immunologischen Fraktionierungsverfahren nach HEIDELBERGER und KENDALL (14) und der physikochemischen Methoden der Fraktionierung mit der Ultrazentrifuge nach PEDERSEN (15) sowie der elektrophoretischen Verfahren, von denen hauptsächlich die sog. "Freie Elektrophorese" nach TISELIUS (16), die Mikroelektrophorese nach ANTWEILER (17) und die Mikromethode par excellence, die Papierelektrophorese, Bedeutung haben.

Letztere hat sich, vor allem in der Durchführung nach GRASSMANN und HANNIG (18) weitestgehend durchgesetzt und sich an Zweckmässigkeit und Schnelligkeit der Durchführung überlegen und bis jetzt unerreicht erwiesen. Vor allem hat sie sich im klinischen Laboratorium zur Serumeiweissbildanalyse und zwar zur Übersichts- und Verlaufsanalyse bestens bewährt. Sie ist ein bei vielen mit Eiweissverschiebungen einhergehenden Krankheitsbildern wertvolles diagnostisches Hilfsmittel geworden. Fast alle anderen Fraktionierungsverfahren sind unter diesen Gesichtspunkten gegenüber der Papierelektrophorese nur von mehr oder weniger theoretischem Interesse, da auch diejenigen mit grossem praktischem Nutzen, z.B. die Methoden nach COHN, KEKWICK, NITSCHMANN u.a. wegen ihrer Kompliziertheit und Aufwendigkeit den grossen Laboratorien und Forschungsstätten vorbehalten sind.

Jedoch bereiten auch bei der Papierelektrophorese die Isolierungen der Einzelfractionen erhebliche Schwierigkeiten und so wurde immer wieder nach neuen Mitteln

und Wegen gesucht, um auf möglichst einfache, billige und zuverlässige Weise einzelne Fraktionen abtrennen zu können. DIRR, DECKER und BECKER (19) haben 1957 eine Fraktionierung mit Uranylacetat angegeben und dabei gefunden, dass bei $\text{pH} = 3,25$ elektrophoretisch reine α_1 -Globuline als erste Fraktion und bei $\text{pH} = 4,3$ elektrophoretisch reine δ -Globuline als letzte Fraktion dargestellt werden können. Weiterhin haben DIRR und FÄRBER (20) 1958 eine Methode der Serumeiweissfraktionierung mit dem schon seit langem bekannten Eiweissfällungsmittel Trichloressigsäure ausgearbeitet mit dem Ergebnis, dass mit steigender Trichloressigsäurekonzentration zuerst die δ - und die α -Globuline gefällt werden und bei einer Trichloressigsäurekonzentration von 0,3 % alles Eiweiss ausser den β -Globulinen und Albuminen und bei einer Konzentration von 1,3 % alles ausser den Albuminen gefällt ist.

In Fortführung dieser Versuche soll im Folgenden ein weiteres, schon seit langem zum qualitativen Eiweissnachweis bekanntes Fällungsmittel, die Sulfosalicylsäure untersucht werden. Diese ist in 20 %iger, wässriger Lösung in jeder Arztpraxis zum Eiweissnachweis im Urin bekannt.

ZUR NOMENKLATUR

Da man heute imstande ist, eine gegebene Eiweissfraktion durch gleichzeitige Anwendung verschiedener Prüfungsverfahren genauer zu umschreiben, weiss man, dass man die Ausdrücke "Albumin" und "Globulin" nur dann in korrekter Weise verwenden kann, wenn auch die Methode angegeben wird, mit der die entsprechenden Substanzen gewonnen werden.

In der folgenden Arbeit soll, da die Elektrophorese zur Bestätigung einer Fraktionierung herangezogen wurde, die heute ohnehin allgemein eingebürgerte elektrophoretische Nomenklatur verwendet werden. Bei dieser sind nach RIVA (21) die Albumine unter anderem als:

"die bei basischem pH am raschesten wandernde elektrophoretische Fraktion",
die Globuline als:

"die Summe der elektrophoretischen Serumfraktionen, welche bei basischem pH langsamer wandern als die Albumine"

definiert und werden nach TISELIUS α -, β -, δ -Globuline mit den Unterfraktionen α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 -, δ_1 -, δ_2 -Globulin unterschieden.

VORBEMERKUNGEN ZUR METHODIK

Bei der Stellung der Aufgabe, Serumeiweiss mit Sulfosalicylsäure zu fraktionieren, wurde von der Annahme ausgegangen, dass es möglich sei, beim Zusammenbringen von Serum und dem Fällungsmittel eine Selektivität regelmässig nachzuweisen, jedoch konnte von vorneherein kaum erwartet werden, dass nur eine einzelne Fraktion aufgefällt würde, ohne die übrigen Fraktionen in Mitleidenschaft zu ziehen und zu verändern. Im folgenden wird nun versucht, eine Selektivität, die von der Konzentration der Sulfosalicylsäure abhängig ist, zu erarbeiten und zwar wird bei konstanter Serumweissmenge verschiedener Grösse die Konzentration des Fällungsmittels verändert. Es muss betont werden, dass die gestellte Aufgabe rein experimentell zu lösen versucht wurde, ohne dass über die chemischen und physikalischen Ursachen einer möglichen verschiedenen Fällbarkeit zunächst eine Aussage versucht wurde.

ENTWICKLUNG EINER METHODIK

Bei den Vorversuchen wurde wie folgt verfahren:

Da über die Stärke des Fällungsvermögens der Sulfosalicylsäure keine Angaben von vorneherein bekannt waren, musste zuerst versucht werden, an die Grenze der Konzentration heranzukommen, bei der gerade die Serumproteine auszufallen beginnen.

Dazu wurde jeweils 2 ccm Humanserum mit bekanntem Proteingehalt mit verschiedenen Mengen einer 20 %igen wässrigen Sulfosalicylsäure, wie sie zum Eiweissnachweis im Urin benützt wird, versetzt und das Ganze ad 5 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Dabei erwies sich die 20 %ige Säure bis herunter zu einer Menge von 0,1 ccm als so starkes Fällungsmittel, dass das gesamte Serumprotein ausgefällt wurde, was elektrophoretisch nachzuweisen war. Nachdem auch mit 10 %iger und 5 %iger Säurelösung Versuchsreihen durchgeführt wurden, wurde die 1 %ige wässrige Lösung der Sulfosalicylsäure für die folgenden Versuche gewählt und aus der Trockensubstanz exakt hergestellt. Mit ihr war, da relativ grössere Mengen verwendet werden konnten, ein leichteres und genaueres Arbeiten möglich. Es stellte sich heraus, dass bei einer Sulfosalicylsäureendkonzentration von 0,1 %, das entspricht 0,5 ccm der 1 %igen Säure im Ansatz, eben Eiweiss auszufallen beginnt und bei einer Säureendkonzentration von 0,3 %, das entspricht 1,5 ccm der 1 %igen Säure im Ansatz, alles Eiweiss ausgefällt ist.

Da sich weiterhin zeigte, dass bis zu einer Säureendkonzentration von 0,2 % = 1,0 ccm Säure nur eine gleichmässige Abnahme aller Fraktionen auftrat und erst bei einer Konzentration von 0,24 % = 1,2 ccm Säure einzelne Fraktionen entscheidend verändert werden und bei der Endkonzentration von 0,26 % = 1,3 ccm Säure

jeweils alle Fraktionen bis auf eine ausgefällt waren, wurde der Raum zwischen 0,2 % und 0,26 % Säureendkonzentration genauer untersucht. Dazu wurden jeweils 12 Ansätze von 2 ccm Serum + Säure + Aqua destillata ad 5,0 gemacht, im einzelnen wie folgt:

	Serummenge in ccm	Sulfosalicylsäure in ccm	Aqua destillata in ccm	Säureendkonzentration im Ansatz in %
1.	2,0	1,0	2,0	0,2
2.	2,0	1,2	1,8	0,24
3.	2,0	1,21	1,79	0,242
4.	2,0	1,22	1,78	0,244
5.	2,0	1,23	1,77	0,246
6.	2,0	1,24	1,76	0,248
7.	2,0	1,25	1,75	0,25
8.	2,0	1,26	1,74	0,252
9.	2,0	1,27	1,73	0,254
10.	2,0	1,28	1,72	0,256
11.	2,0	1,29	1,71	0,258
12.	2,0	1,30	1,70	0,26

Eine Versuchsreihe wurde jeweils mit demselben Serum durchgeführt. Es wurde jeweils zu dem mit destilliertem Wasser verdünnten Serum die Sulfosalicylsäure gegeben. Nach dem Absetzen - ca. 1/2 Stunde bis zur völligen Klarheit der Lösung - des entstandenen weiss-gelblich-flockigen Niederschlages wurde die überstehende Lösung dekantiert, filtriert, mit einigen Tropfen Veronalpuffer (pH = 8,6) versetzt und die Elektrophorese angesetzt. Es wurde dabei 0,04 ccm aufgetragen. Der Niederschlag wurde vorsichtig bis zur Auflösung mit 0,1 n-Natronlauge versetzt, 0,25 ccm Veronalpuffer dazugegeben und davon ebenfalls die Elektrophorese angesetzt. Die elektrophoretischen Bestimmungen wurde nach der von GRASSMANN und HANNIG angegebenen Methode ausgeführt.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

An Hand der Elektrophoresebilder, die aus den nach der Fällung überstehenden Lösungen gemacht wurden, wird gezeigt, dass bei bestimmter Fällungsmittelkonzentration regelmässig bestimmte Eiweissfraktionen bevorzugt ausgefällt werden. Es werden bei Konzentrationen, die nicht genügen, um alles Serum-eiweiss auszufällen, nicht etwa alle Fraktionen gleichmässig vermindert. Das bedeutet, dass eine selektive Fraktionierung mit Sulfosalicylsäure möglich ist und dass dabei eine gewisse Gesetzmässigkeit vorhanden ist.

Bei sehr niedriger Sulfosalicylsäurekonzentration entstehen nur ganz geringe, elektrophoretisch jedenfalls kaum erfassbare Veränderungen im Eiweissbild. Bei Erhöhung der Konzentration nimmt der Gesamteiweissgehalt zunächst auf Kosten aller Fraktionen ab, schliesslich werden der Reihe nach die γ -, die β - und die α -Globuline und Albumine ausgefällt. Es sind zuletzt nur noch ein Teil α -Globuline im Elektrophoresebild nachzuweisen und bei weiterer Zugabe von Sulfosalicylsäure lassen sich keine Serumproteine mehr darstellen, es tritt auch nach weiterem Versetzen der, nach Stehenlassen, völlig klaren Lösung mit der Säure keine Flockung mehr auf. Bis zu einer Säureendkonzentration von 0,2 % ist anscheinend zu wenig Säure vorhanden, um einzelne Fraktionen stärker oder ganz abtrennen zu können. Erst ab 0,2 % Endkonzentration beginnen die γ -Globuline stärker auszufallen. Sie sind ab 0,24 % nicht mehr nachweisbar. Als zweite Fraktion werden die β -Globuline gefällt und sind bei 0,252 % Endkonzentration nicht mehr elektrophoretisch nachweisbar. Dann werden die α -Globuline und die Albumine ausgefällt und sind bei 0,26 % Säurekonzentration regelmässig abgetrennt und es bleibt nur noch ein Teil der γ -Globuline, und zwar zwischen 22 % und 67 % des Ausgangswertes erhalten. Hierzu Tabelle 1. Ab 0,3 % Endkonzentration sind auch diese vollständig gefällt. Hierzu Abb. 1 - 3.

Es bleiben natürlich bei den einzelnen Fällungsmittelverdünnungen nicht jeweils die einzelnen Fraktionen ganz erhalten. Das war von vorneherein nicht zu erwarten, da man ja weiss, dass diese aus einem Gemisch von Proteinen und nicht aus einem einheitlichen Eiweisskörper bestehen. So stellte z.B. TISELIUS (22) 1936 erstmals die Inhomogenität der γ -Globuline fest und ROUBERT (23) konnte 1947 insgesamt 12 Unterfraktionen derselben fraktionieren, ebenso konnten JAGER (24) und Mitarbeiter mehrere Komponenten darstellen. Da aber diese Proteingemische im elektrischen Feld ungefähr die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit haben, wäre es auf diese Art möglich auch eine Unterfraktionierung, z.B. bei den γ -Globulinen zu erreichen. In letzteren finden sich nach COHN (25) 98 % der Immunglobuline, vor allem nach SCHIFF (26) im Rekonvaleszentenserum, während Normalserum oft arm daran ist. Es wäre vielleicht möglich, mit Sulfosalicylsäure gewisse Antikörper der γ -Globuline zu eliminieren. Bei zunehmender Sulfosalicylsäurekonzentration verschiebt sich also im Laufe der Fällung der relative prozentuale Anteil der einzelnen Fraktionen immer mehr zu Gunsten der γ -Globuline. In Abbildung 4 wird diese Verschiebung nach den Tabellen 2 mit 6 graphisch dargestellt. Dazu wurden die elektrophoretisch erhaltenen und planimetrisch errechneten γ -Globulin-Prozentzahlen bei den jeweils auf der Abszisse abgetragenen Säurekonzentrationen auf der Ordinate eingezeichnet.

Interessant ist die Tatsache, dass es nach der schon erwähnten, allgemeinen, gleichmässigen Eiweissabnahme zu Beginn der Fällung in ihrem weiteren Verlauf zu kleineren, ziemlich regelmässigen relativen Verschiebungen der Fraktionen kommt. Die Albumine nehmen z.B., wie aus den Tabellen 2 mit 6 ersichtlich,

bei 0,2 - 0,244 % Säurekonzentration relativ etwas zu, um dann gleichmässig bis zu 0,26 % Endkonzentration abzunehmen. Weiterhin scheinen die β -Globuline mit steigender Säurekonzentration relativ eher etwas zuzunehmen. Sie fallen dann plötzlich, zusammen mit den Albuminen, bei 0,256 % Säurekonzentration aus.

Ob und inwieweit für diese vielleicht nur scheinbaren Verschiebungen technische Fehler im Verlaufe eines Versuches haftbar zu machen sind, lässt sich mit den zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden nicht aussagen.

Absichtlich wurden Seren mit unterschiedlichem Proteingehalt und sehr unterschiedlichen Ausgangsgrössen der einzelnen Fraktionen ausgewählt. Dazu einige Beispiele in Tabelle 7. Zum Vergleich sind dort auch die bei der Papierelektrophorese gefundenen Normalwerte nach der Zusammenstellung von WUNDERLY (27) angegeben. Es wäre möglich gewesen, dass z.B. bei einem sehr niedrigen Ausgangswert einer Fraktion durch Versetzen mit der Säure soviel von ihr ausgefällt würde, dass der Rest auch infolge der Verdünnung nicht mehr elektrophoretisch nachgewiesen hätte werden können und dass dadurch eine Fraktionierung vorgetäuscht worden wäre. Es ergeben sich jedoch elektrophoretisch keine besonderen Unterschiede.

Da das Serum bei den bisher beschriebenen Versuchen jeweils 1 : 2 1/2 verdünnt wurde, wäre als weitere Fehlerquelle der sog. Denis-Effekt in Frage gekommen. Dieser besagt, dass durch stärkere Verdünnung mit Wasser infolge der Änderung des Elektrolytmilieus Verschiebungen in der Dispersität der Proteine eintreten. Es wurden zum Ausschluss dieser Fehlerquelle einzelne Versuchsreihen derart abgewandelt, dass die Serummengen gewechselt wurden und damit die Verdünnung des Serums erhöht bzw. erniedrigt wurde. Dazu wurden einmal 1 ccm und einmal 3 ccm Serum + Aqua destillata + Fällungsmittel ad 5,0 genommen.

Im einzelnen also:

	Serummenge in ccm	Aqua destillata in ccm	Sulfosalicylsäure in ccm	Säureendkonzentration im Ansatz in %
1.	1,0	3,0	1,0	0,2
	1,0	2,8	1,2	0,24
	1,0	2,79	1,21	0,242
usw. bis:				
	1,0	2,7	1,30	0,26

	Serummenge in ccm	Aqua destillata in ccm	Sulfosalicylsäure in ccm	Säureendkonzentration im Ansatz in ‰
2.	3,0	1,0	1,0	0,2
	3,0	0,8	1,2	0,24
	3,0	0,79	1,21	0,242
	usw. bis:			
	3,0	0,7	1,3	0,26

Die elektrophoretischen Ergebnisse bei diesen Versuchsreihen unterschieden sich nicht von den vorher erhaltenen.

Bei der Elektrophorese des in 0,1 n-Natronlauge gelösten Niederschlages konnten keine brauchbaren Bilder erhalten werden. Es ist hierfür wohl die mehr oder weniger starke Denaturierung der Proteine durch das Fällungsmittel verantwortlich zu machen. Auch eine vorausgehende 48-stündige Dialyse in aqua destillata besserte die Ergebnisse nicht. Es ergab sich jeweils nur ein verwaschenes Band von der Breite eines Normalserums, das keine Auswertung zuließ. Hierzu Abb. 5.

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wird eine Übersicht über die bisherige Forschungstätigkeit auf dem Gebiet der Serumeiweissfraktionierung und der dabei zur Anwendung gelangten wichtigsten Methoden unter Hervorhebung einiger geschichtlicher Daten gegeben.

Dann wird eine eigene Methode zur Fraktionierung von Serumeiweiss mit Sulfosalicylsäure beschrieben.

Es ergab sich, dass bei einer Sulfosalicylsäurekonzentration von 0,24 % die γ_1 -Globuline, bei einer Konzentration von 0,252 % die γ_2 -Globuline und bei einer Konzentration von 0,26 % die β -Globuline und die Albumine ausgefällt werden. Bei einer Endkonzentration von 0,3 % ist alles Eiweiss gefällt.

Bei einer Sulfosalicylsäurekonzentration von 0,26 % (Serumeiweissgehalt rund 7 g%) bleibt im Filtrat elektrophoretisch reines α -Globulin in einer Ausbeute von rund 45 % des Gesamt- α -Globulins.

Bei pathologischen Seren ergab sich im grossen und ganzen vorerst das gleiche Bild.

TABELLE 1

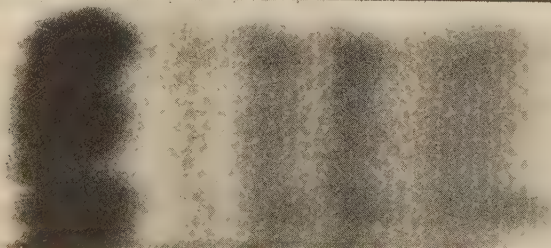
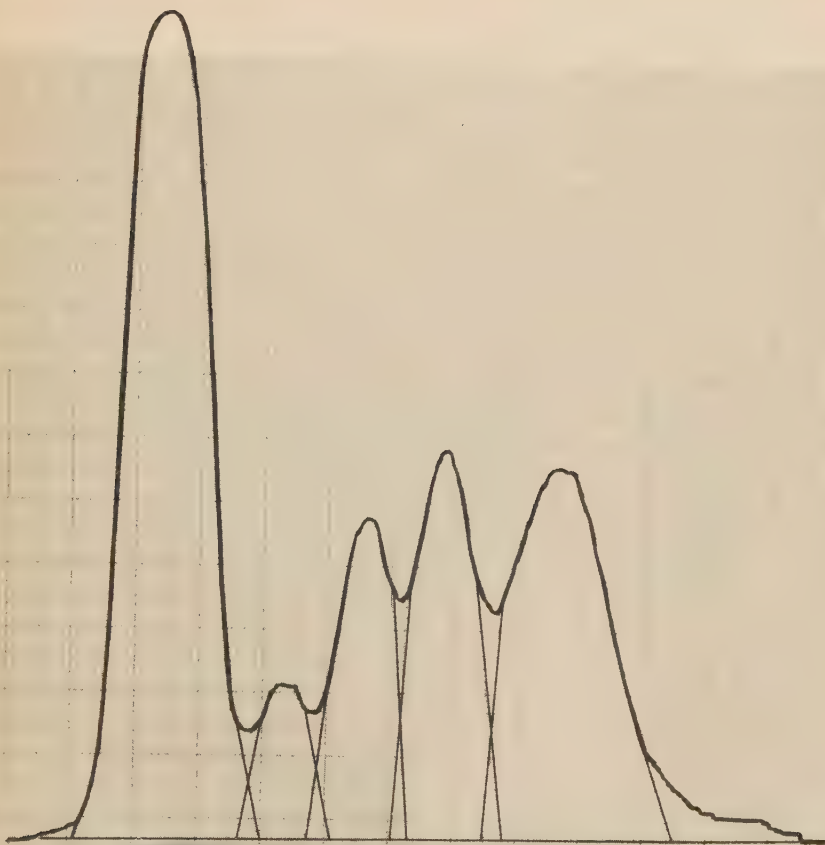
β-Globuline im unbehandelten Serum

β-Globuline bei 0,26 % Sulfosalicylsäure

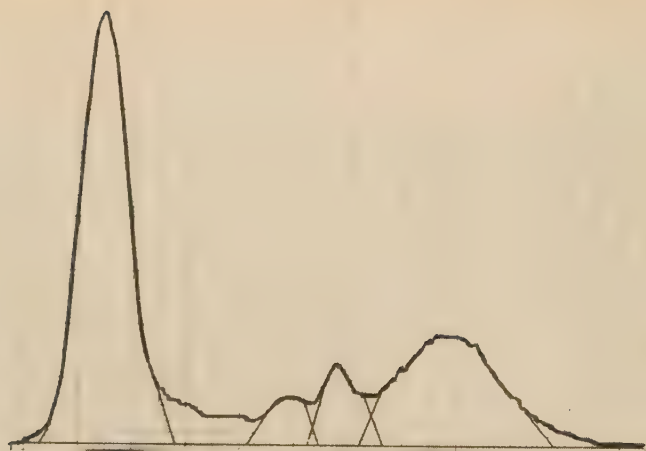
Gesamteiweiss g%	Planimeter	relat. %	absol. g%	Planimeter	% des Ausgangswertes	absol. g%
7,3	130	21,25	1,54	64	49,23	0,75
7,0	234	37,20	2,60	112	47,85	1,24
6,7	130	25,58	1,70	67	51,53	0,87
7,5	150	22,00	1,65	62	41,33	0,68
7,0	146	41,10	2,87	60	41,09	1,17
7,3	270	24,35	1,77	60	22,22	0,61
7,6	132	30,40	2,31	89	67,42	1,55
7,6	158	21,05	1,59	60	37,97	0,60
7,5	135	24,45	1,83	56	41,47	0,75
7,6	120	23,70	1,80	63	52,50	0,94

Schwankungsbreite: 22,22 - 67,42

Mittelwert: 45,23
=====

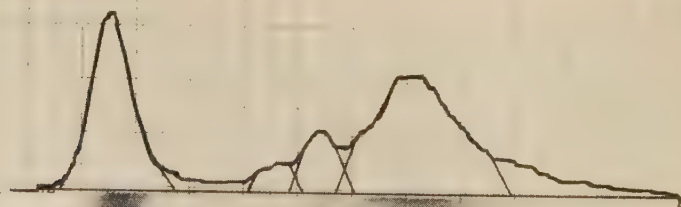


Eiweissgehalt: 7,3 g%



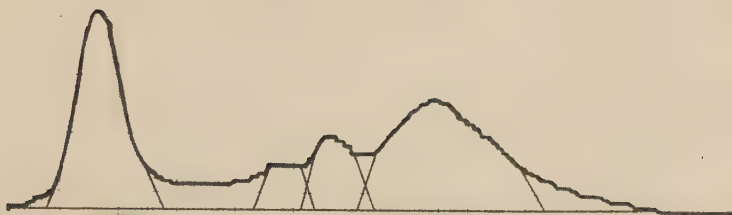
Säurekonzentration : 0,2%

b



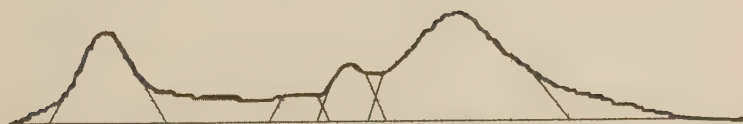
Säurekonzentration : 0,24%

c



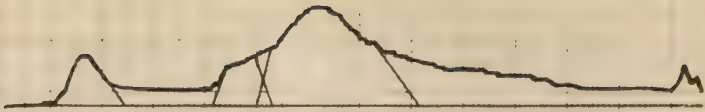
Säurekonzentration : 0,244%

d



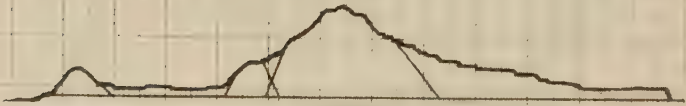
Säurekonzentration : 0,248%

e



Säurekonzentration : 0,252%

f



Säurekonzentration : 0,256%

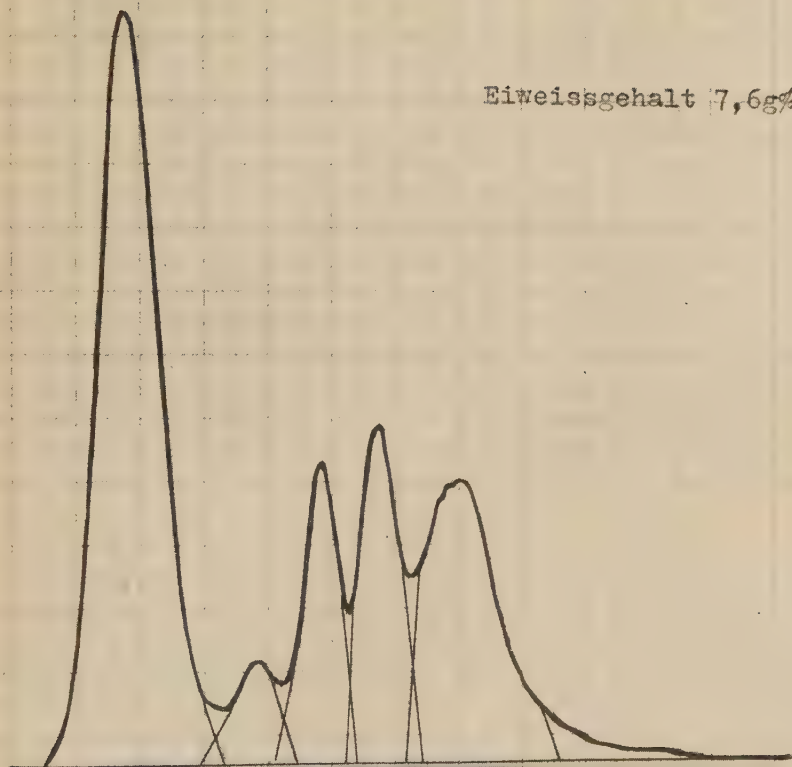
g

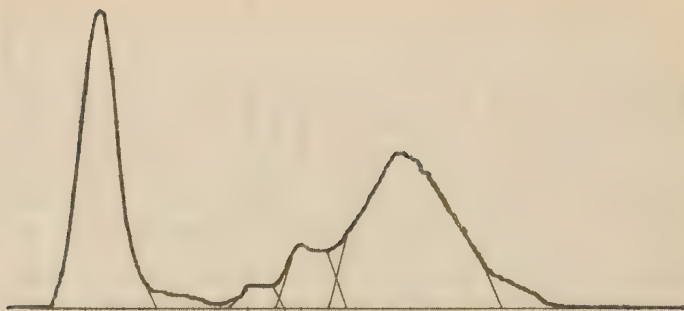


Säurekonzentration : 0,26%

h

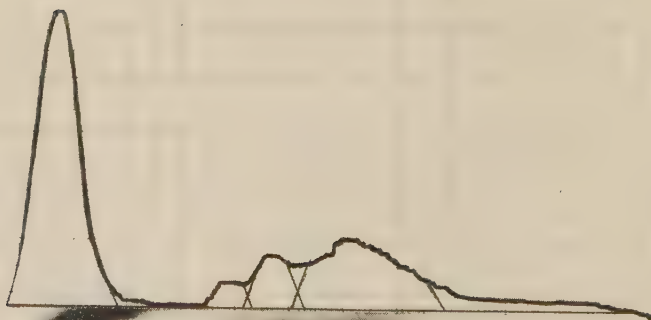
Eiweissgehalt 7,6g%





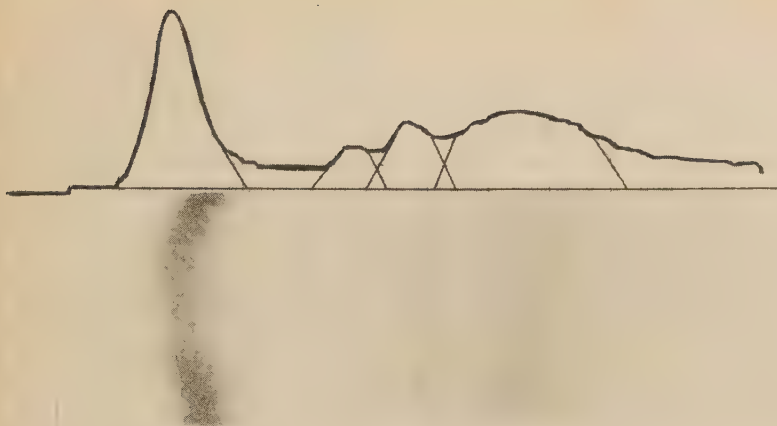
Säurekonzentration : 0,24%

b



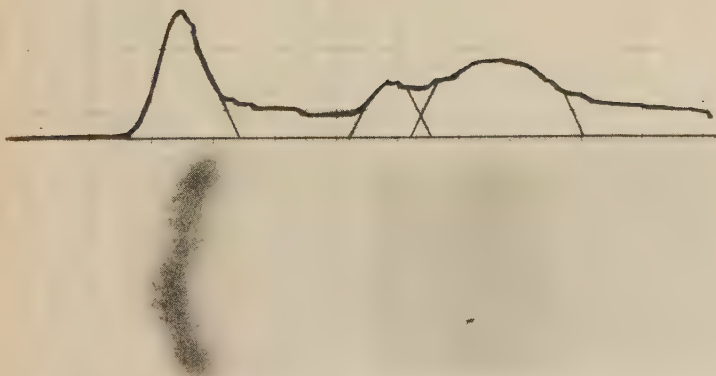
Säurekonzentration : 0,244%

c



Säurekonzentration : 0,248%

d



Säurekonzentration : 0,252%

e



Säurekonzentration : 0,256%

f



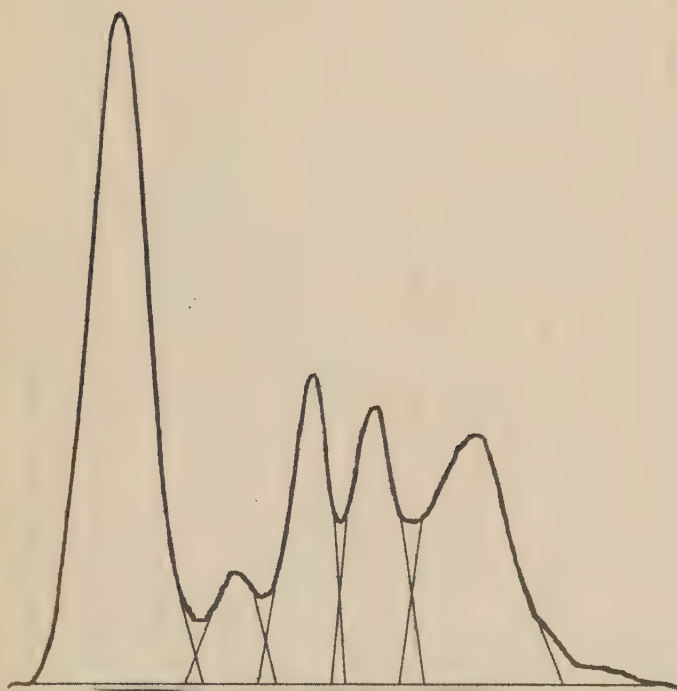
Säurekonzentration : 0,258%

g

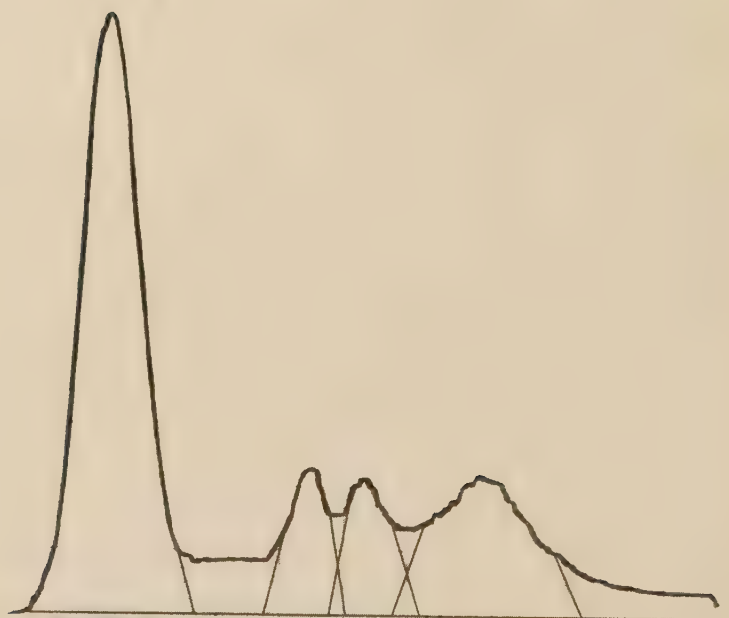


Säurekonzentration : 0,26%

h

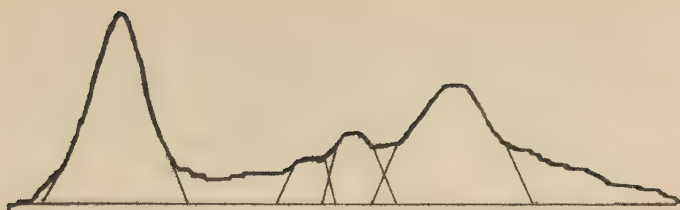


Eiweissgehalt 7,5 g%



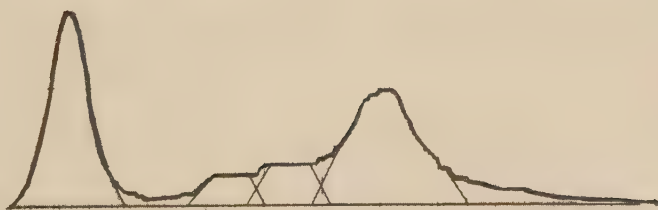
Säurekonzentration : 0,2%

b



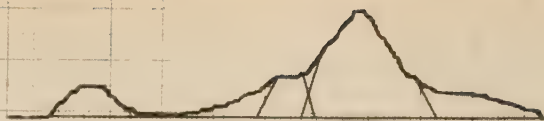
Säurekonzentration : 0,24%

c



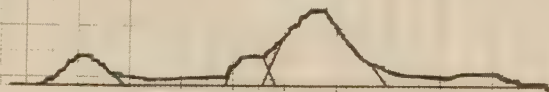
Säurekonzentration : 0,244%

d



Säurekonzentration : 0,252%

e



Säurekonzentration : 0,256%

f



Säurekonzentration : 0,26%

g

TABELLE 2

U.S. = Unbehandeltes Serum

Sk. = Sulfosalicylsäurekonzentration

	U.S.	Sk.	0, 2%	0, 24%	0, 244%	0, 248%	0, 252%	0, 256%	0, 26%
Alb. %	43,80	57,30	37,70	38,02	25,85	15,52	8,76	-	
α_1 -Glob. %	5,32	-	-	-	-	-	-	-	
α_2 -Glob. %	11,43	5,63	4,65	6,64	5,75	-	-	-	
β -Glob. %	15,12	7,94	10,22	11,95	10,92	13,22	11,40	-	
δ -Glob. %	24,35	29,15	47,45	43,40	57,50	71,40	79,85	100,0	

TABELLE 3

	U.S.	Sk.	0, 24%	0, 244%	0, 248%	0, 252%	0, 256%	0, 258%	0, 26%
Alb. %	49,10	42,45	62,20	39,80	36,60	28,55	13,31	-	
α_1 -Glob. %	4,74	-	-	-	-	-	-	-	
α_2 -Glob. %	11,18	3,29	3,56	7,74	-	-	-	-	
β -Glob. %	13,93	8,55	8,45	13,28	14,50	14,30	9,34	-	
δ -Glob. %	21,05	45,70	25,80	39,20	48,90	57,15	77,35	100,0	

TABELLE 4

	U.S.	Sk.	0, 2%	0, 24%	0, 244%	0, 252%	0, 256%	0, 26%
Alb. %	44,85	58,90	42,30	39,65	12,72	14,93	-	
α_1 -Glob. %	5,80	-	-	-	-	-	-	
α_2 -Glob. %	13,68	9,24	6,17	7,26	-	-	-	
β -Glob. %	13,68	9,90	11,90	10,61	14,55	12,82	-	
δ -Glob. %	22,00	22,00	39,65	42,50	72,75	72,25	100,0	

TABELLE 5

U. S. = Unbehandeltes Serum

Sk. = Sulfosalicylsäurekonzentration

	U. S. Sk.	0,2%	0,24%	0,244%	0,250%	0,254%	0,26%
Alb. %	39,65	43,90	46,10	34,60	29,85	24,00	-
α_1 -Glob. %	3,68	-	-	-	-	-	-
α_2 -Glob. %	5,10	5,83	4,56	5,78	5,80	-	-
β -Glob. %	10,48	9,17	9,14	12,82	12,35	14,00	-
γ -Glob. %	41,10	41,10	40,20	46,80	52,60	62,00	100,0

TABELLE 6

	U. S. Sk.	0,2%	0,24%	0,244%	0,250%	0,256%	0,26%
Alb. %	45,60	46,70	52,15	44,30	15,88	3,82	-
α_1 -Glob. %	3,02	2,91	-	-	-	-	-
α_2 -Glob. %	5,88	5,08	2,99	3,07	-	-	-
β -Glob. %	8,27	7,10	6,31	7,90	10,35	11,45	-
γ -Glob. %	37,20	38,71	38,55	44,70	73,75	84,70	100,0

ABBILDUNG 4

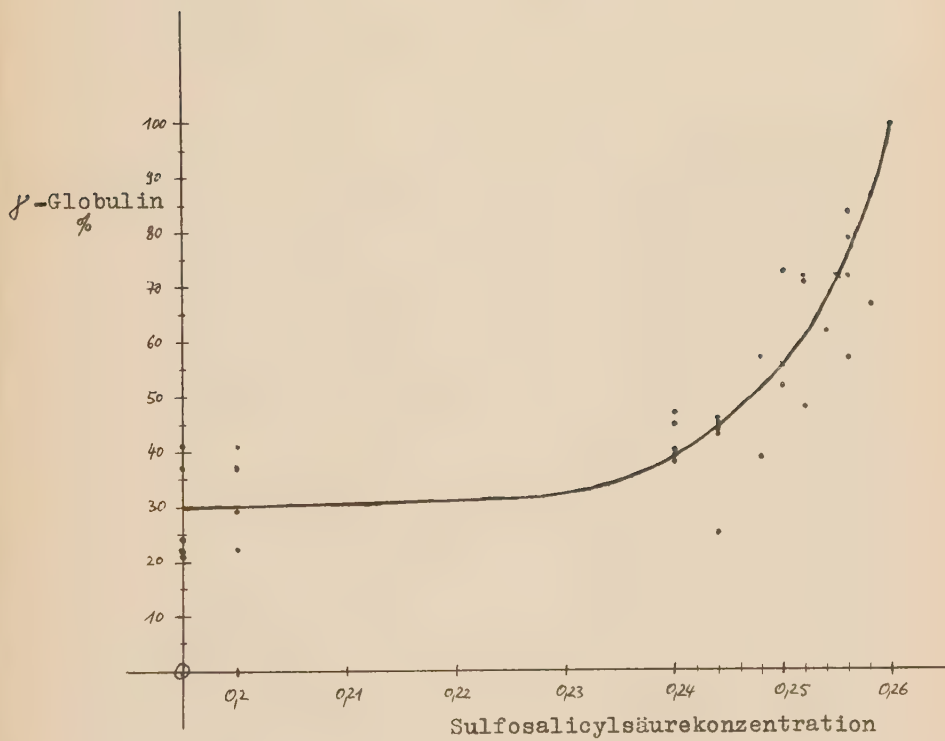
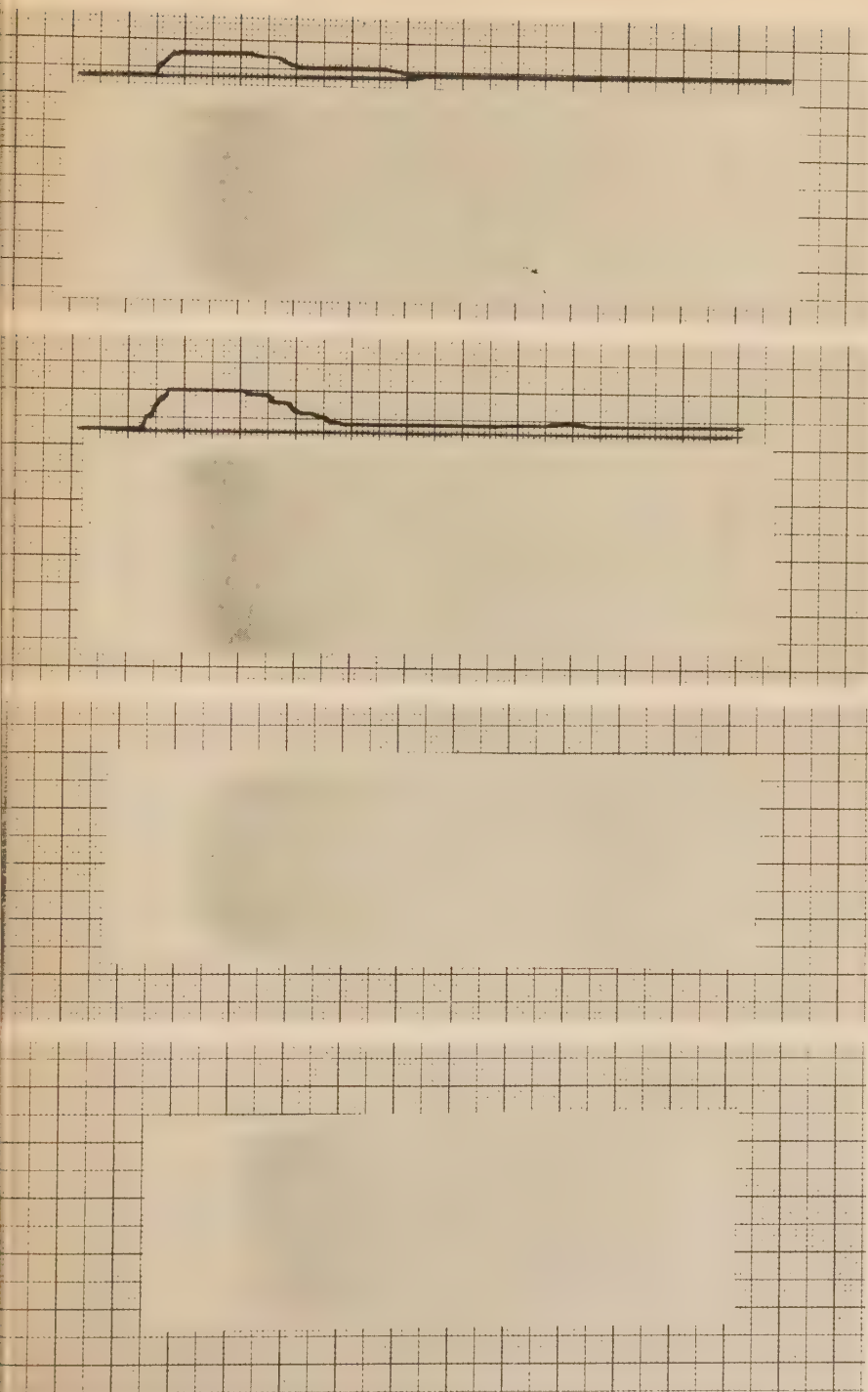


TABELLE 7

Einige der zu den Versuchsreihen benützten Humanseren:

Gesamteiweissgehalt in g%	Alb. %	α_1 - %	α_2 - %	β - %	γ -Globuline %
7,3	51,05	4,10	9,02	13,76	21,25
6,7	49,60	3,94	8,86	12,02	25,58
7,0	45,60	3,02	5,88	8,27	37,20
7,5	44,85	5,80	13,68	13,68	22,00
7,3	43,80	5,32	11,43	15,12	24,35
7,0	39,65	3,68	5,10	10,48	41,10
Mittelwert	61,6	3,9	7,3	10,7	16,5
und Schwankung	55,4-72,9		3,5-9,5		13,6-22,2
nach Wunderly		1,4-4,4		8,6-12,6	



LITERATURVERZEICHNIS

- 1) MULDER, G.J. zitiert nach MÜLLER, J.:
Handbuch der Physiologie d. Menschen, 4. Aufl.
S. 110 (1844)
- 2) SCHERER, J.:
Liebigs Ann. Chem. u. Pharm. 40, 1 (1841)
zitiert nach E.J. COHN
- 3) HAMMARSTEN, O.:
Pflügers Arch. ges. Physiol. 17, 413 (1878)
- 4) KAUDER, G.:
Arch. exp. Path. Pharmac. 20, 411 (1886)
- 5) HOWE, P.E.:
J. biol. Chem. 49, 93 u. 109 (1921)
- 6) GUTMAN, A.B. et al.:
J. clin. Invest. 20, 765 (1941)
- 7) BUTLER, A.M. a. H. MOTGOMERY:
J. biol. Chem. 99, 173 (1933)
- 8) LEUTHARDT, P. u. F. WUHRMANN:
Klin. Wschr. 1938/I, 409
- 9) ROCHE, J., Y. DERRIEN u. S. MANDEL:
C.R. Soc. Biol. 138, 515, 600, 634, 651, 676,
677 (1944), 139, 101 (1945)
- 10) COHN, E.J., et al.:
J. Amer. chem. Soc. 68, 459 (1946)
- 11) KEKWICK, R.A. a. M.W. MACKAY:
Her Majesty's Stationary Office, London 1954 (Me-
dical Research Council special Report Series No.
286)
- 12) NITSCHMANN, H., P. KISTLER u. W. LERGIER:
Helv. chim. Acta 37, 866 (1954)
- 13) HOREJSI, J. a. R. SMETANA:
3e congrès intern. de Biochimie., Bruxelles, 1955.
Resumes des communications, p. 14
- 14) HEIDELBERGER, M. a. F.E. KENDALL:
a) J. exp. Med. 50, 809 (1929)
b) J. exp. Med. 62, 697 (1935)
- 15) PEDERSEN, K.O.:
Ultracentrifugal studies on serum and serum fractions.
Almqvist a. Wiksells Boktryckery A.B., Uppsala,
1945

- 16) TISELIUS, A.: Biochem. J. 31, 1464 (1937)
- 17) ANTWEILER, H.J.: Die quantitative Elektrophorese in der Medizin, Springer Verlag (1957)
- 18) GRASSMANN, W., K. HANNIG u. M. KNEDEL: Dtsch. med. Wschr., 76, 333 (1951)
- 19) DIRR, K., P. DECKER und H. BECKER: Hoppe-Seyler, Ztschr. für phys. Chemie, 307, 97 (1957)
- 20) DIRR, K. und D. FÄRBER: Hoppe-Seyler, Ztschr. für phys. Chemie, 313, 296-299 (1958)
- 21) RIVA, G.: Das Serumeiweissbild, Verlag Hans Huber, Bern, 29 (1957)
- 22) TISELIUS, A.: Die Elektrophorese gereinigter Antikörper. J. of Exper. Med. 65, 641 (1937)
- 23) ROUBERT, L.: Die elektrophoretischen Bestandteile des δ -Globulins im Pferdeserum. C. r. Soc. Biol. (Paris) 141, 808 (1947)
- 24) JAGER, V.B., et al.: Immunologische und elektrophoretische Untersuchungen an menschlichem δ -Globulin. J. of biol. Chem. 176, 1177 (1948)
- 25) COHN, E.J.: Chemische, physiologische und immunologische Eigenschaften und der klinische Gebrauch der Blutplasmabestandteile. Experientia (Basel) 3, 126 (1947)
- 26) SCHIFF, E.: Referat über die amerikanische pädiatrische Literatur von 1939-1947. Kinderärztl. Prax. 1948, 256
- 27) WUNDERLY, Ch.: Die Papierelektrophorese. Verlag H.R. Sauerländer, Aarau, (1954).

Zum Schluss meiner Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, allen meinen verehrten Lehrern meinen herzlichsten und aufrichtigen Dank auszusprechen.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. Dr. K. DIRR für sein stets wohlwollendes Entgegenkommen, seine Unterstützung und Beratung bei der Stellung und Durchführung der vorliegenden Arbeit.

LEBENS LAUF

Als Sohn des 1953 verstorbenen Facharztes für Innere Medizin Dr. med. Heinrich Müller und seiner Ehefrau Aloisia, geb. Sagmeister, wurde ich am 5.6.1932 in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule kam ich 1941 in das Theresiengymnasium in München, 1943 bis 1945 in das Humanistische Gymnasium Passau und nach dem Kriege in das Maximiliansgymnasium in München und absolvierte dort am 17.7.1951. Anschliessend studierte ich zwei Semester an der Juristischen Fakultät der Universität München und trat 1952 in die Medizinische Fakultät über.

Zu meiner medizinischen Ausbildung besuchte ich die Universitäten München, Hamburg und Zürich. Am 27.1.1959 legte ich in München das Staatsexamen ab. Von März bis Juni 1959 arbeitete ich im Labor der II. Medizinischen Klinik der Universität München. Seit Juli 1959 war ich im Krankenhaus des Dritten Ordens in Nymphenburg auf der medizinischen Abteilung als Medizinalassistent und seit 1.4.1960 bin ich in der Chirurgischen Klinik der Universität München als Medizinalassistent beschäftigt.

